



**VALIDACIÓN DE UN MÉTODO DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN DEL EVENTO MON-Ø4Ø32-6 EN SOYA MEDIANTE LA TÉCNICA DE qPCR**

Raúl Flores Cardoso, Aidé Jiménez Martínez y Ma. Guadalupe Barrera Andrade. Centro Nacional de Referencia en Detección de Organismos Genéticamente Modificados (CNRDOGM), Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Km 37.5 Carretera Federal México – Pachuca, Tecámac de Felipe Villanueva Centro, Estado de México. CP 55740. México. [dgiaap.iica21@senasica.gob.mx](mailto:dgiaap.iica21@senasica.gob.mx)

*Palabras clave: OGM, soya, qPCR*

**Introducción.** México es considerado el cuarto importador de soya a nivel mundial, realizando importaciones equivalentes al 4.5% de la soya que se comercializa a nivel internacional (1). En México, está permitida la liberación al ambiente en programa experimental, piloto y/o comercial de varios cultivos genéticamente modificados (GM), entre éstos, la soya (2). A partir del año 2008 se inició la liberación al ambiente a nivel experimental del evento MON-Ø4Ø32-6 (3) el cual presenta una modificación genética que le confiere resistencia al herbicida glifosato. El objetivo del presente trabajo fue validar un método para la detección, identificación y cuantificación de secuencias genéticamente modificadas, en específico MON- Ø4Ø32-6 en soya por medio de la técnica de PCR tiempo real (qPCR).

**Metodología.** La estrategia experimental utilizada fue la realización de mezclas de harinas GM de soya con el evento MON- Ø4Ø32-6 y harina convencional de esta especie vegetal en diferentes porcentajes (1%, 0.5%, 0.1%, 0.05%, 0.025% y 0.01%) (4). A partir de estas harinas con diferentes concentraciones del evento MON-Ø4Ø32-6, se realizó la extracción de DNA genómico mediante el kit comercial de Genetic ID. Finalmente, se estandarizó la técnica de qPCR para conocer los límites de detección y cuantificación del evento mencionado.

**Resultados.** La extracción de ADN de soya se realizó satisfactoriamente por medio del kit comercial Genetic ID con modificaciones a la técnica reportada por el proveedor. Los ensayos de amplificación del gen endógeno (Lec) en las muestras de soya permitieron demostrar la confiabilidad del protocolo. El límite de detección se estableció mediante la existencia de amplificación del evento específico MON-Ø4Ø32-6 para cada una de las mezclas generadas.

% Mezcla	1.0	0.5	0.1	0.05	0.025	0.01
% Detección	100	100	100	100	100	100

**Tabla 1.** Límite de detección para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en el equipo VIIA-7 y LC480 II.

El límite de cuantificación se estableció mediante la interpolación de cada una de las mezclas generadas para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 dentro de una curva estándar (5).

% Mezcla	1.0	0.5	0.1
% OGM (exp)	1.24	0.56	0.06
S	0.11	0.06	0.01
U (RSD <sub>ID</sub> )	0.03	0.02	0.0025
U combinada UC	18.10	18.10	18.10

**Tabla 2.** Límite de cuantificación para el evento MON-Ø4Ø32-6 en el equipo VIIA-7.

% Mezcla	1.0	0.5	0.1
% OGM (exp)	1.14	0.54	0.07
S	0.25	0.13	0.02
U (RSD <sub>ID</sub> )	0.06	0.03	0.01
U combinada UC	18.10	18.10	18.10

**Tabla 3.** Límite de cuantificación para el evento MON-Ø4Ø32-6 en el equipo LC 480 II.

**Conclusiones.**

Se realizó la extracción de ADN genómico de soya obteniendo una calidad y concentración adecuada. El límite de detección para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en la matriz de soya fue 0.010% para ambos termocicladores (VIIA-7 Y LC 480II). El límite de cuantificación para el evento específico MON-Ø4Ø32-6 en la matriz de soya fue 0.1% para ambos termocicladores (VIIA-7 Y LC 480II).

**Agradecimiento.** Al Servicio Nacional De Sanidad, Inocuidad Y Calidad Agroalimentaria y al Centro Nacional De Referencia De Organismos Genéticamente Modificados, por haber permitido la realización del presente trabajo.

**Bibliografía.**

1. Aserca. La importancia del frijol soya [línea]. México, DF, Julio 2010 [fecha de consulta: 19 de Diciembre del 2014]. <http://www.infoaserca.gob.mx/fichas/ficha30-soya201007.pdf>
2. México. Ley De Bioseguridad De Organismos Genéticamente Modificados, DOF 18-03-2005, 18 de marzo de 2005, p.44
3. Programa Nacional Pecuario SAGARPA 2007-2012.
4. Trapmann S, Burns M, Broll H, Macarthur R, Wood R, Zel J. (2009): *Guidance Document on Measurement Uncertainty for GMO Testing Laboratories*. DOI: 10.2787/18988
5. Mazzara M, Munaro B, Larcher S, Grazioli E, Delobel C, Savini C, Van den Eede G. (2007) *Events-specific for the Quantification of Soybean line 40-3-2 Using Real-time PCR; Validation Report and Protocol*. DOI: 10.2788/61824